

I n d e x f o r m a t i o n s . u s

Publication number: DE3924538

Publication date: 1991-01-31

Inventor: KLEINSCHROTH JUERGEN DR (DE); HARTENSTEIN JOHANNES DR (DE); SCHAECHTELE CHRISTOPH DR (DE); RUDOLPH CLAUS DR (DE)
GOEDECKE AG (DE)

Applicant:

Classification:

- International:

A61K31/55; A61K31/553; A61P7/02; A61P9/00; A61P9/10; A61P9/12; A61P25/00; A61P25/28; A61P29/00; A61P35/00; A61P37/00; A61P37/02; A61P37/08; A61P43/00; C07D498/22; A61K31/55; A61K31/553; A61P7/00; A61P9/00; A61P25/00; A61P29/00; A61P35/00; A61P37/00; A61P43/00; C07D498/00; (IPC1-7) A61K31/55; C07D498/22

- European:

C07D498/22

Application number: DE19893924538 19890725

Priority number(s): DE19893924538 19890725

Also published as:

 EP0410389 (A1)
 US5043335 (A1)
 JP3058990 (A)
 JP2001106691 (A)
 EP0410389 (B1)

Report a data entry error

Abstract not available for DE3924538

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

[23]

⑯ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑯ ⑯ **Offenlegungsschrift**
⑯ ⑯ **DE 3924538 A1**

⑯ ⑯ Int. Cl. 5:

C07D 498/22

A 61 K 31/55
// (C07D 498/22,
209:00, 307:00, 273:00,
245:00)

⑯ ⑯ Anmelder:
Gödecke AG, 1000 Berlin, DE

⑯ ⑯ Erfinder:

Kleinschroth, Jürgen, Dr., 7819 Denzlingen, DE;
Hartenstein, Johannes, Dr., 7801 Stegen, DE;
Schächtele, Christoph, Dr., 7800 Freiburg, DE;
Rudolph, Claus, Dr., 7801 Vörstetten, DE

⑯ ⑯ **Indolocarbazol und dessen Verwendung**

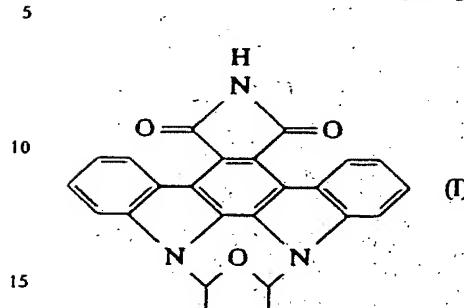
Die Erfindung betrifft 9,12-Epoxy-1-oxo-1H-2,3,9,10,11,12-hexahydro-diindolo[1,2,3-fg:3',2',1'-kl]-pyrrolo-[3,4-i][1,6]benzodiazocin, Verfahren zur Herstellung sowie Arzneimittel mit einem Gehalt an dieser Verbindung zur Behandlung von Herz- und Gefäßkrankheiten wie Thrombosen, Arteriosklerose, Hypertension und Entzündungsprozessen, Allergien, Krebs und bestimmten degenerativen Schäden des Zentralnervensystems sowie von Krankheiten des Immunsystems.

DE 3924538 A1

DE 3924538 A1

Beschreibung

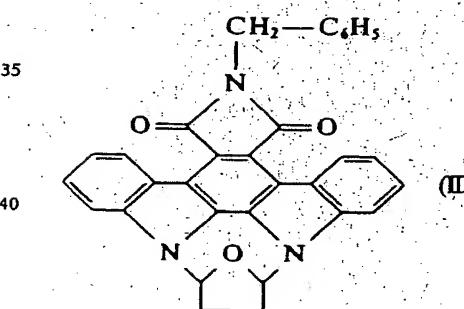
Die Erfindung betrifft das Indolocarbazol 9,12-Epoxy-1-oxo-1H-2,3,9,10,11,12-hexahydro-diindolo[1,2,3-fg:3',2',1'-k1]pyrrolo[3,4-i][1,6]benzodiazocin (I)



20 sowie Arzneimittel mit einem Gehalt an dieser Verbindung und das bei der Herstellung von (I) anfallende am Imidstickstoffatom durch einen 5-Methoxytetrahydrofuran-2-ylrest substituierte Derivat 9,12-Epoxy-2-(5-methoxytetrahydrofuran-2-yl)-1-oxo-1H-2,3,9,10,11,12-hexahydro-diindolo[1,2,3-fg:3',2',1'-k1]pyrrolo-[3,4-i][1,6]benzodiazocin (IV).

25 N,N-Glycoside von Indolocarbazolen als Inhibitoren von Serin/Threonin-Proteinkinasen sind bereits in der Literatur beschrieben worden. Als Referenzverbindung dieser Klasse von Proteinkinaseinhibitoren ist Staurosporin, ein Alkaloidglykosid mikrobiellen Ursprungs, anzusehen (Biochemical and Biophysical Research Communication 1986, 135, 297). Ein Nachteil dieses sehr potenteren Inhibitors ist, daß er die verschiedenen Serin/Threonin-spezifischen Proteinkinasen wie Proteinkinase C, die cAMP- und die cGMP-abhängige Proteinkinase in gleichem Maße hemmt.

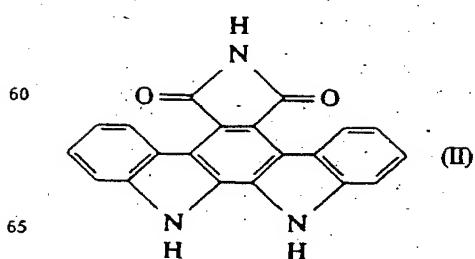
Überraschenderweise wurde nun gefunden, daß die erfindungsgemäße Verbindung im Gegensatz zu Staurosporin eine hohe Selektivität für die Proteinkinase C aufweist. Es ist zwar in der Literatur schon die analoge Verbindung 2-Benzyl-9,12-epoxy-1-oxo-1H-2,3,9,10,11,12-hexahydro-diindolo[1,2,3-fg:3',2',1'-k]-pyrrolo-[3,4-i]1,6]benzodiazocin (III)



beschrieben worden, die sich von der erfundungsgemäßen Verbindung durch einen Benzylsubstituenten am Imid-Stickstoff unterscheidet (Heterocycles 1984, 21, 309).

In der Literatur finden sich jedoch keine Angaben über eine inhibitorische Wirksamkeit gegenüber Proteinkinasen. Vergleichsversuche (Tabelle 1) zeigen jedoch, daß unter denselben Bedingungen des in-vitro-Enzym-Assays die Verbindung III bei einer Konzentration von 10^{-5} M keine signifikante Hemmung der Proteinkinase C besitzt. Die außergewöhnliche Potenzsteigerung beim Übergang von der N-Benzylverbindung III zur am Imid-Stickstoff unsubstituierten Verbindung I war überraschend.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindung erfolgt in Analogie zu einem in der Literatur beschriebenen Verfahren (Heterocycles, 1984, 21, 309) durch Umsetzung von Indolo[2,3-a]pyrrolo[3,4-c]carbazol-5,7(6H)-dion (II)



mit 2,5-Dimethoxytetrahydrofuran in Gegenwart eines sauren Katalysators, wobei vorzugsweise halogenierte

Kohlenwasserstoffe, wie Dichlormethan oder 1,2-Dichlorethan als Lösungsmittel dienen. Als Katalysatoren sind vor allem p-Toluolsulfinsäure und Eisen(III)chlorid Hexahydrat geeignet.

Die Synthese des als Ausgangsprodukte dienenden Indolocarbazols (II) ist in der Literatur beschrieben (Tetrahedron Lett. 1983, 1441; J. Org. Chem. 1987, 52, 1177; J. Org. Chem. 1989, 54, 824).

Die Hemmung der mit Phosphatidylserin und Diacylglycerol aktivierten Proteinkinase C wurde nach EP-A 02 55 126 bestimmt. Die Bestimmung der Inhibition der cAMP- und der cGMP-abhängigen Proteinkinase erfolgte gemäß den Testbeschreibungen im experimentellen Teil.

Tabelle 1

Verbindung	Inhibition (IC ₅₀ ; µM)			Verhältnis A/C	IC ₅₀ Kinase IC ₅₀ C-Kinase G/C
	C-Kinase	A-Kinase	G-Kinase		
I	0,028	5,5	0,52	196	19
Staurosporin	0,013	0,04	0,018	3,1	1,4
III	> 10				

Die Proteinkinase C spielt für die intrazelluläre Signaltransduktion eine wichtige Schlüsselrolle und ist eng mit der Regulation von kontraktilem, sekretorischen und proliferativen Prozessen verknüpft. Aufgrund dieser Eigenschaften kann die erfundungsgemäße Verbindung zur Behandlung von Herz- und Gefäßkrankheiten wie Thrombosen, Arteriosklerose, Hypertension und Entzündungsprozessen, Allergien, Krebs und bestimmten degenerativen Schäden des Zentralnervensystems sowie von Krankheiten des Immunsystems verwendet werden. Die Verbindung kann in der jeweils geeigneten Formulierung enteral oder parenteral in Dosen von 1 bis 100 mg/kg, bevorzugt 1 bis 50 mg/kg verabreicht werden.

Der Gegenstand der Erfindung wird durch die folgenden Beispiele näher erläutert:
9,12-Epoxy-1-oxo-1H-2,3,9,10,11,12-hexahydro-diindolo[1,2,3-fg:3',2',1'-k1]-pyrrolo-[3,4-i][1,6]benzodiazocin (I):

Eine Suspension von 500 mg (1,54 mmol) Indolo[2,3-a]pyrrolo[3,4-c]carbazol-5,7-(6H)-dion (II) in 25 ml Dichlormethan wird mit 3 ml (23 mmol) 2,5-Dimethoxytetrahydrofuran, sowie 20 mg p-Toluolsulfinsäure versetzt und 5 Tage bei 20°C gerührt. Das Lösungsmittel wird abdestilliert und der Rückstand zwischen Ethylacetat (400 ml) und Wasser (100 ml) verteilt. Die Ethylacetatphase wird abgetrennt, getrocknet (Natriumsulfat) und eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel mit Toluol/Ethylacetat 3 : 1 chromatographiert. Die Fraktion mit dem Rf 0,45 wird isoliert und mit Diisopropylether/Ethylacetat verrührt.

Man erhält 9,12-Epoxy-1-oxo-1H-2,3,9,10,11,12-hexahydro-diindolo[1,2,3-fg:3',2',1'-k1]-pyrrolo-[3,4-i][1,6]benzodiazocin (I) in Form gelber Kristalle, die > 340°C schmelzen.

Als Nebenprodukt wird bei der Chromatographie das am Imidstickstoffatom durch einen 5-Methoxytetrahydrofuran-2-ylrest substituiertes Derivat 9,12-Epoxy-2-(5-methoxytetrahydrofuran-2-yl)-1-oxo-1H-2,3,9,10,11,12-hexahydro-diindolo[1,2,3-fg:3',2',1'-k1]-pyrrolo-[3,4-i][1,6]benzodiazocin (IV) erhalten (Rf 0,5 in Toluol/Ethylacetat 3 : 1).

Spektroskopische Daten von 9,12-Epoxy-2-(5-methoxytetrahydrofuran-2-yl)-1-oxo-1H-2,3,9,10,11,12-hexahydro-diindolo[1,2,3-fg:3',2',1'-k1]-pyrrolo-[3,4-i][1,6]benzodiazocin (IV):

MS (70eV): m/z = 393 (M⁺, 100), 321(26);

IR (KBr): γ = 3430, 1760, 1695, 1350, 1310, 740 cm⁻¹;

¹H-NMR (DMSO-d₆/TMS): δ = 2,04 (ps-q, 2H, CH₂); 2,74 (m, 2H,

CH₂); 7,33 (m, 2H, CH); 7,43 (t, 2H, J = 7Hz, 8Hz, ArH); 7,63

(t, 2H, J = 7Hz, 8Hz, ArH); 7,94 (d, 2H, J = 8Hz, ArH); 9,01

(d, 2H, J = 8Hz, ArH).

Testbeschreibung für G-Kinase und A-Kinase

cGMP-abhängige Proteinkinase: Das Enzym wird aus Rinderlunge gereinigt und seine Aktivität über den Einbau von Phosphor-32-markiertem Phosphat in Histon bestimmt. Im Testansatz von 200 µl sind folgende Komponenten enthalten: 20 mM Tris-HCl, pH 7,4, 5 mM MgCl₂, 1 mM DTT, 10 µM ATP, 10 µM cGMP, 40 µg BSA, 2% Glycerin sowie 10 µg Histon II-A und gegebenenfalls die zu untersuchende Testsubstanz. Der Ansatz wird ohne Enzym für 4 min bei 30°C vorinkubiert und die Reaktion dann durch Zugabe von 2,5 nM G-Kinase gestartet. Nach 5 min Inkubation bei 30°C wird die Reaktion durch Zugabe von 10% Trichloressigsäure gestoppt und die Proben dann über ein Nitrocellulosefilter abgefiltert. Der Phosphat-Einbau wird über Cerenkov-Zählung im Scintillationszähler bestimmt und daraus die prozentuale Inhibition berechnet.

cAMP-abhängige Proteinkinase: Die Messung der Aktivität erfolgt mit der kommerziell verfügbaren katalytischen Untereinheit des Enzyms. Dabei wird der Einbau von Phosphor-32-markiertem Phosphat in Histon gemessen. Der Reaktionsansatz von 200 µl enthält folgende Komponenten: 50 mM PIPES-NaOH, pH 7,5, 10 mM MgCl₂, 1 mM DTT, 40 µM ATP sowie 50 µg Histon-H-2B. Die Durchführung des Tests erfolgt wie bei der G-Kinase. Der Start der Reaktion erfolgt dabei durch Zugabe von 6 Units der katalytischen Untereinheit der cAMP-abhängigen Proteinkinase.

Patentansprüche

1. 9,12-Epoxy-1-oxo-1H-2,3,9,10,11,12-hexahydro-diindolo[1,2,3-fg:3',2',1'-k1]-pyrrolo-[3,4-i][1,6]benzodiazocin.

5 2. Verfahren zur Herstellung der Verbindung gemäß Anspruch 1 dadurch gekennzeichnet, daß Indolo[2,3-a]pyrrolo[3,4-c]carbazol-5,7-(6H)-dion mit 2,5-Dimethoxytetrahydrofuran in Gegenwart eines sauren Katalysators und in einem halogenierten Kohlenwasserstoff als Lösungsmittel zu 9,12-Epoxy-1-oxo-1H-2,3,9,10,11,12-hexahydro-diindolo[1,2,3-fg:3',2',1'-k1]-pyrrolo-[3,4-i][1,6]benzodiazocin und dem Nebenprodukt 9,12-Epoxy-2-(5-methoxytetrahydrofuran-2-yl)-1-oxo-1H-2,3,9,10,11,12-hexahydro-diindolo[1,2,3-fg:3',2',1'-k1]-pyrrolo-[3,4-i][1,6]benzodiazocin umgesetzt werden.

10 3. 9,12-Epoxy-2-(5-methoxytetrahydrofuran-2-yl)-1-oxo-1H-2,3,9,10,11,12-hexahydro-diindolo[1,2,3-fg:3',2',1'-k1]-pyrrolo-[3,4-i][1,6]benzodiazocin.

15 4. Arzneimittel enthaltend neben üblichen Hilfs- und Zusatzstoffen 9,12-Epoxy-1-oxo-1H-2,3,9,10,11,12-hexahydro-diindolo[1,2,3-fg:3',2',1'-k1]-pyrrolo-[3,4-i][1,6]benzodiazocin.

20 5. Verwendung der Verbindung gemäß Anspruch 1 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Herz- und Gefäßkrankheiten wie Thrombosen, Arteriosklerose, Hypertension und Entzündungsprozessen, Allergien, Krebs und bestimmten degenerativen Schäden des Zentralnervensystems sowie von Krankheiten des Immunsystems.

25 6. Verwendung der Verbindung gemäß Anspruch 1 zur Behandlung von Herz- und Gefäßkrankheiten wie Thrombosen, Arteriosklerose, Hypertension und Entzündungsprozessen, Allergien, Krebs und bestimmten degenerativen Schäden des Zentralnervensystems sowie von Krankheiten des Immunsystems.

30

35

40

45

50

55

60

65